製品コード 7711

研究用

TaKaRa

Viable *Salmonella* Selection Kit for PCR

説明書

v201408Da

微生物の検出および同定には主として培養法が用いられていますが、より簡便かつ迅速に結果が得られる方法として、PCR 法等の遺伝子検出技術を応用した手法が注目され、現在では食品検査や微生物検査などにおいても一般的な手法として普及しつつあります。しかし、遺伝子検出技術の課題として、生菌だけでなく死菌由来 DNA も検出されるため、偽陽性率が高くなる点が指摘されてきました。

タカラバイオの Viable Bacteria Selection Kit for PCR シリーズは、EMA-PCR 法（下図）により生菌由来 DNA を選択的に検出するために、選択的膜透過性色素（EMA : ethidium monoazide）を用いて検体の前処理を行うキットです。独自の技術で EMA 修飾の反応性向上を実現した（特許出願中）ことにより、非常に効率よく死菌由来 DNA を EMA 修飾することができ、修飾を受けた DNA は PCR 増幅できない状態となります。死菌由来 DNA の修飾効果が向上したことで、リアルタイム PCR のように増幅サイズが短い場合にも効果的に死菌由来 DNA の影響を排除することができるようになり、高感度なリアルタイム PCR による生菌由来 DNA の選択的な検出が可能になりました。

Viable *Salmonella* Selection Kit for PCR は、サルモネラ菌用に至適化された EMA 処理用キットで、サルモネラの死菌由来 DNA を効率よく修飾します。本製品で検体の EMA 処理を行った後、DNA を抽出してサンプルとすることで、Cycleave®PCR *Salmonell*a Detection Kit Ver.2.0（製品コード CY205）を用いたリアルタイム PCR により、サルモネラの生菌由来 DNA を、死菌由来 DNA の影響を除いて検出することができます。

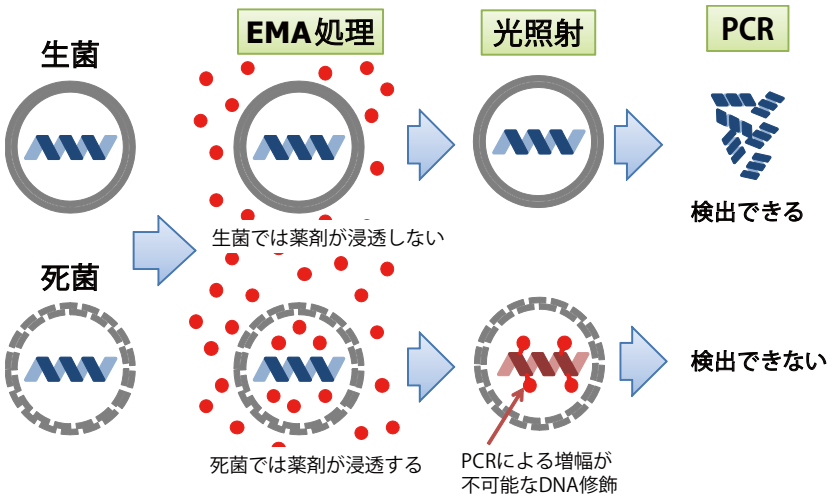


図 1. EMA-PCR 法

【注記】

別売の Control Test Kit (Viable Bacteria Selection)（製品コード CY290）と併せて使用することで、Viable Bacteria Selection Kit for PCR シリーズを用いた EMA 処理操作が、検体由来成分による反応阻害などを受けることなく正しく行われたかどうかを確認することができます。
Viable Bacteria Selection Kit for PCR シリーズの試薬コンポーネントには反応確認用のプラスミド DNA があらかじめ混合されており、検体に対する EMA 処理が正しく行われると、このプラスミド DNA も同時に修飾され、PCR 増幅できない状態になります。従って、EMA 処理を行った検体に対して、このプラスミド DNA 上の領域をターゲットとする PCR 増幅を行うことで、EMA 処理操作の成否を確認することが可能です。

I. キットの内容（50 検体分）

1.	Solution A-sal	250 μl × 2
2.	Solution B-sal＊	200 μl × 4
3.	Protease Solution-1	150 μl
4.	Protease Solution-2	500 μl

＊： 光による化学反応により物質性状が変化し、核酸修飾能力が減衰しますので、遮光に留意してください。

Solution A-sal：
サルモネラ菌に至適化した核酸修飾反応促進試薬です。EMA 処理操作の成否を確認するためのプラスミド DNA を含みます。

Solution B-sal：
サルモネラ菌に至適化した選択的膜透過性色素（EMA）を含む溶液です。

Protease Solution-1：
サルモネラ菌以外の不純物を消化し、不純物によるその後の反応への悪影響を軽減します。

Protease Solution-2：
Protease Solution-1 による反応時に添加する試薬です。

II. 保存

－ 20℃（輸送、保存とも）

III. キット以外に必要な機器、試薬（主なもの）

1.5 ml マイクロチューブ
卓上遠心機
微量高速冷却遠心機
マイクロピペット
マイクロピペット用チップ（疎水性フィルター付）
ボルテックスミキサー

【前処理操作（EMA による死菌由来 DNA の修飾）】

光照射装置 LED Crosslinker 12（製品コード EM200）＊1、または LED Crosslinker ＊1, 2
ヒートブロック（95℃で使用可能なもの）
1.5 ml マイクロチューブ ＊3

【DNA 抽出】

NucleoSpin Tissue XS（製品コード 740901.10/.50/.250）＊4
特級エタノール（＞ 99%）
ヒートブロック（56℃ および 70℃で使用可能なもの）

【リアルタイム PCR】

CycleavePCR *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0（製品コード CY205）

リアルタイム PCR 装置および専用チューブ

- Thermal Cycler Dice® Real Time System *II*（製品コード TP900/TP960）、
  Thermal Cycler Dice Real Time System *Lite*（製品コード TP700/TP760）
  解析には食品環境検査用ソフトウェア、または Thermal Cycler Dice Real Time System Software を用いてください。
- Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System（Life Technologies）など

＊1： ハロゲンランプ [岩崎電気株式会社、写真証明用アイランプ スポット（集光形）、PRS500W] で代用できます。

＊2： 本製品の販売は終了しました。

＊3： 透明チューブの使用を推奨します。弊社では下記のチューブで実績があります。
・DNA LoBind チューブ , 1.5 ml PCR clean（Eppendorf：Code 95295）
・1.5 ml ループ付凍結保存チューブ（SARSTEDT：Code 72.692.100）

＊4： 使用検体に着色や濁りがあるなど夾雑物の混入が疑われる場合は NucleoSpin Soil（製品コード 740780.10/.50/.250）の使用をお勧めします。

IV. 使用に関して

本キットを使用する際の注意事項です。使用前に必ずお読みください。

使用目的： 本キットは環境分析や食品分析に使用する製品です。

測定結果： 本キットは検体の EMA 処理を行い、続いて CycleavePCR *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0 を用いてリアルタイム PCR を行うことにより、サルモネラ菌の生菌由来 DNA を死菌由来 DNA と区別して検出することを目的としていますが、死菌の量や検体の組成によっては EMA 処理に影響が生じ、死菌由来 DNA が検出される場合もあります。従って、培養法による検査も実施の上で、総合的に結果を判定することをお勧めします。
（検査結果判定により発生する問題に関して、タカラバイオ株式会社は一切の責任を負いません。）

廃棄： 試料は感染性を有するものとして、各施設の安全規定に従って廃棄してください。作業区域は常に清潔に保ち、検体または検査に用いた器具等は高圧蒸気滅菌器を用いて 121℃で 20 分間以上加熱滅菌処理、または 2.5% 次亜塩素酸ナトリウム液で処理を行った上、各施設の感染性廃棄処理マニュアルに従って処理してください。EMA を含む試薬を廃棄する際は活性炭を通して色素を吸着させてから捨ててください。この際に使用した活性炭は危険物として処理してください。プラスチックの試薬容器ならびに器具は、廃棄物の処理および清掃に関する法律に従って処理してください。

V. 操作上の注意

1. 装置および試薬などの取扱いは該当品の取扱説明書に従ってください。

2. 万一、Solution B-sal が光により劣化すると、死菌由来 DNA への修飾効果が薄れ、生菌および死菌由来 DNA の区別を行うことができません。操作中は遮光に細心の注意を払ってください。使用しない間は、チューブをアルミホイルなどで覆って遮光してください。使用後は、アルミパックに入れて早めに冷凍庫に戻してください。

3. Solution A-sal は粘性が高いので、注意深くゆっくりとピペッティングを行ってください。

VI. 実験の進め方について

1. 前処理（EMA 処理）条件の検討

(1) はじめに

下記に示したサルモネラ菌の標準的な EMA 処理条件は、予めサルモネラ菌に対して最適化したものですが、検体に含まれる夾雑物の影響により、EMA 処理の効果が変化することがあります。そのような可能性が考えられる場合には、夾雑物存在下で EMA 処理の条件検討を行います。具体的には、純培養菌の生菌と死菌に夾雑物を混合したものを準備し、下記条件をもとに EMA 処理の時間や回数を変えて、その効果を確認します。

[死菌を用いての確認]

死菌抑制効果を確認します。
夾雑物を加えた死菌サンプルを用いて、最適な死菌抑制効果が得られる EMA 処理条件を検討します。またその条件で EMA 処理を行った際に、どの菌数まで死菌抑制効果があるかを確認します。

[生菌を用いての確認]

EMA 処理の生菌への影響を確認します。
夾雑物を加えた生菌サンプルを用いて、EMA 処理あり／なしの結果を比較し、検出感度に影響を与えない EMA 処理条件を検討します。

◆ サルモネラ菌の標準的な EMA 処理条件

光照射装置 [LED Crosslinker 12（製品コード EM200）、LED Crosslinker] を使用する場合

1. 1.5 ml チューブに調製したサンプル 40 μl を準備する。
2. Solution A-sal 10 μl を添加し、混合＊後、軽くスピンダウンする。
3. Solution B-sal 5 μl を添加し、混合＊後、軽くスピンダウンする。
4. 遮光して室温で 5 分間静置する。
5. 光照射装置にセットし、15 分間光照射する。
6. サンプルをスピンダウンし、95℃、5 分間ヒートブロックで加熱する。[加熱殺菌]

＊： 短時間の緩やかなボルテックスもしくは数回のタッピングで混合してください。

（注 1）操作方法の全体は、VII. 操作方法を確認してください。

（注 2）EMA 処理条件の検討で EMA 処理を複数回行う場合は、3. ～ 5. の工程を繰り返して行ってください。その場合、各回の処理で 5 分間光照射を行い、最後の回のみ 15 分間光照射を行ってください。

(2) 条件検討の流れ

純培養菌の生菌と死菌に夾雑物を加えたサンプルを準備し、各種条件で EMA 処理を行います。まず、EMA 処理回数（1、2、3 回）の検討を行います。死菌の抑制効果が不十分な場合は、続いて EMA 処理時間の検討を行います。多くの場合、EMA 処理時間は 5 分で十分ですが、15 分程度まで延長すると効果が高くなることがあります。

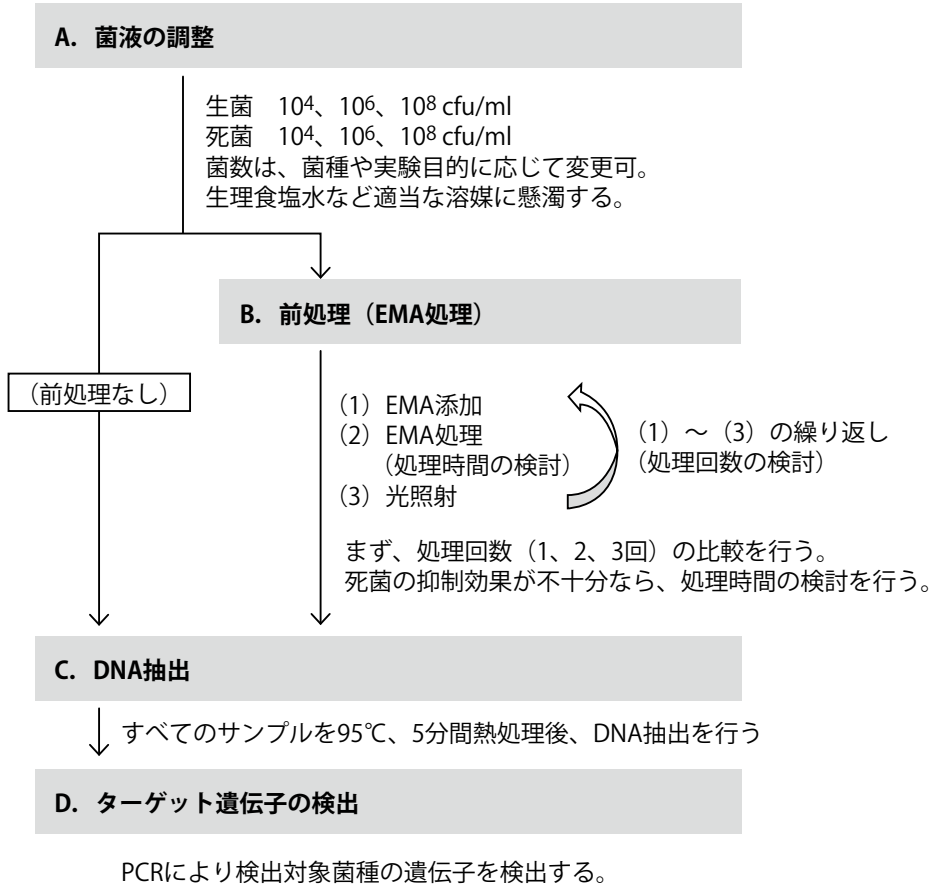


図 2. 条件検討のフロー

(3) 結果の解析

EMA 処理なしの結果と各種条件で EMA 処理を行った結果を比較して、生菌への影響と死菌抑制効果を確認します。
図 3 は、EMA 処理の回数を検討した実験例です。左図には Ct 値を、右図には EMA 処理ありとなしの Ct 値の差（ΔCt 値）を示しています。

[生菌への影響]

生菌を用いた際の EMA 処理ありとなしの Ct 値の差（ΔCt 値）が EMA 処理による生菌の検出感度の低下を表します。適切な EMA 処理条件では、ΔCt 値は 2 ～ 4 程度となることが多く、その値が小さい程、生菌への影響が小さい EMA 処理条件です。EMA は死菌由来 DNA を効率よく修飾しますが、菌種や菌数、処理条件によっては生菌にも若干の影響を与えることが知られています。
図 3 の実験例では、ΔCt 値がいずれも 4 より小さい値を示しています。

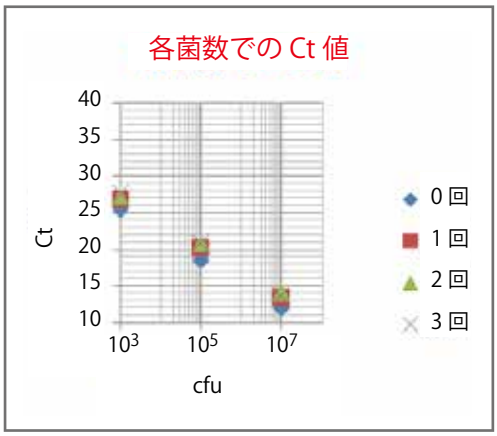
[死菌抑制効果]

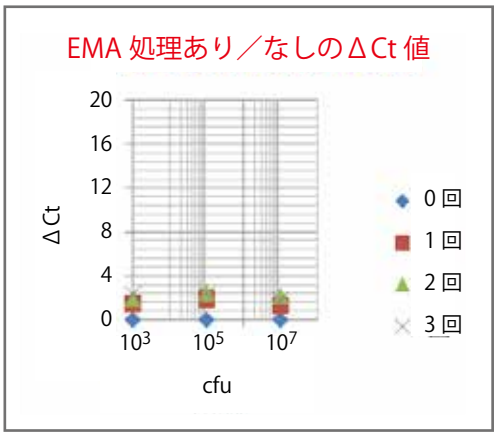
死菌を用いた際の EMA 処理ありとなしの Ct 値の差（ΔCt 値）が死菌抑制効果を表します。適切な EMA 処理条件では、ΔCt 値は 8 ～ 15 程度となることが多く、その値が大きい程、効果的に死菌を抑制できる EMA 処理条件です。結果を正しく解釈するために、どの程度まで死菌抑制効果があるかをあらかじめ確認しておくことが重要です。
図 3 の実験例では、10^3 cfu の死菌を処理した場合などで検出限界以下となり、Ct 値が得られませんでした。また、Ct 値が得られたケースではΔCt 値が 12 以上を示したことから、3 log ～ 4 log 程度の死菌抑制効果があると推測されます。死菌抑制効果を正確に測定するには、VIII. 実施例の「2. 死菌抑制効果」のように、10 倍の希釈系列を調製して実験を行います。

[EMA 処理条件の選定]

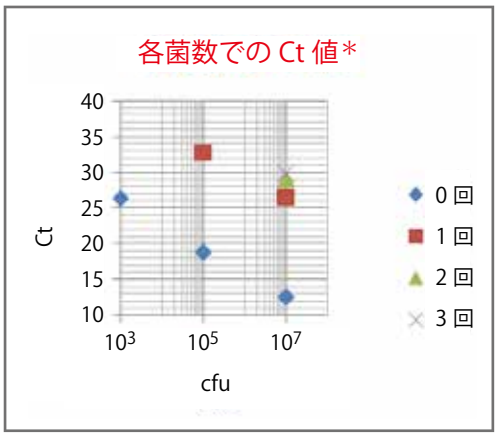
生菌と死菌の結果を踏まえて、生菌への影響が小さく、死菌抑制効果が十分な EMA 処理条件を選択します。
図 3 の実験例では、生菌への影響は EMA 処理 1 ～ 3 回のいずれでも小さく、どの回数でも問題ありませんでした。一方、死菌抑制効果は EMA 処理 1 回よりも 2 回の方が大きく、2 回と 3 回はほぼ同等なので、操作が簡便な EMA 処理 2 回を選択します。

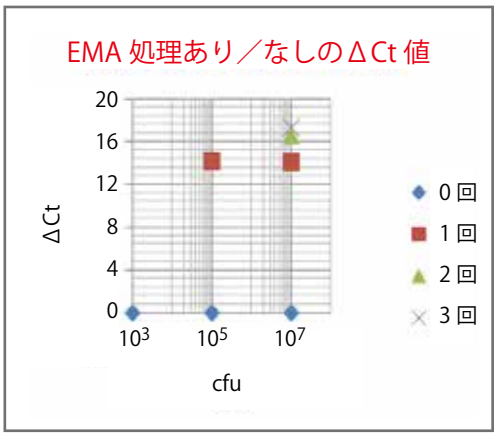
生菌の結果





死菌の結果





＊： 10^3 cfu の死菌で EMA 処理が 1 ～ 3 回の場合、および 10^5 cfu の死菌で EMA 処理が 2 ～ 3 回の場合は、Ct 値が得られなかった。（検出限界以下だった。）

図 3. 生菌への影響および死菌抑制効果

2. 実検体の測定

(1) はじめに

「1. 前処理（EMA 処理）条件の検討」で決めた条件で実検体の EMA 処理を行います。この場合にも、EMA 処理なしと EMA 処理ありの比較を行います。EMA 処理なしの結果は生菌と死菌を合わせた総菌数を、EMA 処理ありの結果は主に生菌数を表しますので、これらの結果から生菌および死菌の存在を推定することができます。なお、EMA 処理を行った検体に関しては、別途 Control Test Kit を用いて EMA 処理効果の確認を行います。

(2) 実験の流れ

EMA 処理に供する菌数は、その処理条件で抑制可能な死菌数以下になるようにします。また、検体に含まれる夾雑物が EMA 処理に影響を及ぼすことが明らかな場合は、必要に応じて検体を希釈します。

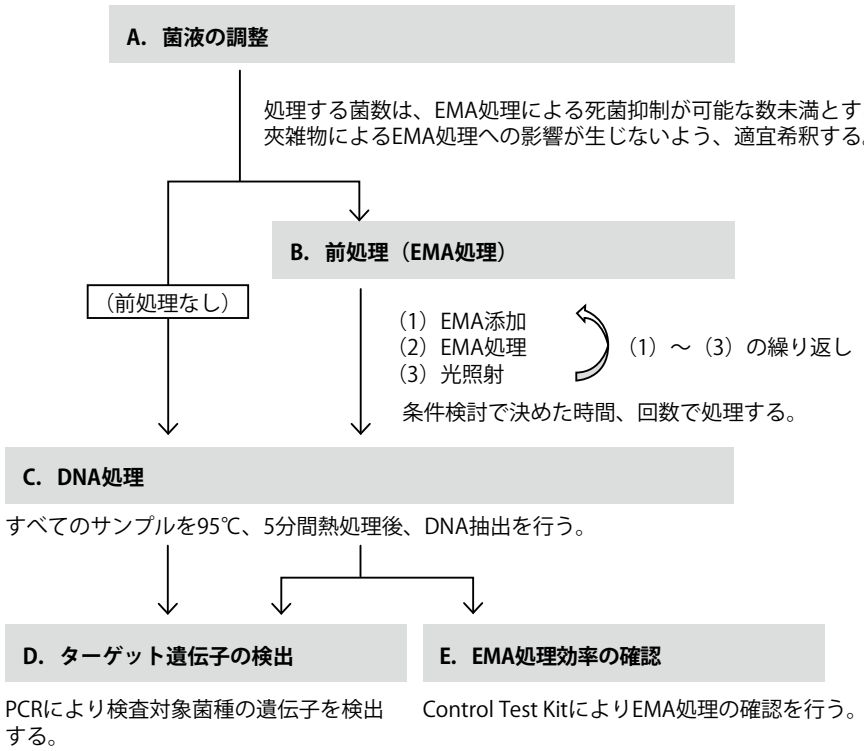


図 4. 実検体での実験フロー

(3) 結果の解析

同一検体由来の EMA 処理あり／なしの結果を比較して、生菌と死菌の存在の有無を下表の通り判断します（陽性コントロール、陰性コントロール、インターナルコントロールが妥当な結果を示すことを前提とする）。

		前処理 (EMA 処理) あり	
		検出	不検出
前処理（EMA 処理）なし	検出	生菌　＋／－ *3 死菌　＋／－	生菌　－ *2 死菌　＋
	不検出		生菌　－ *1 死菌　－

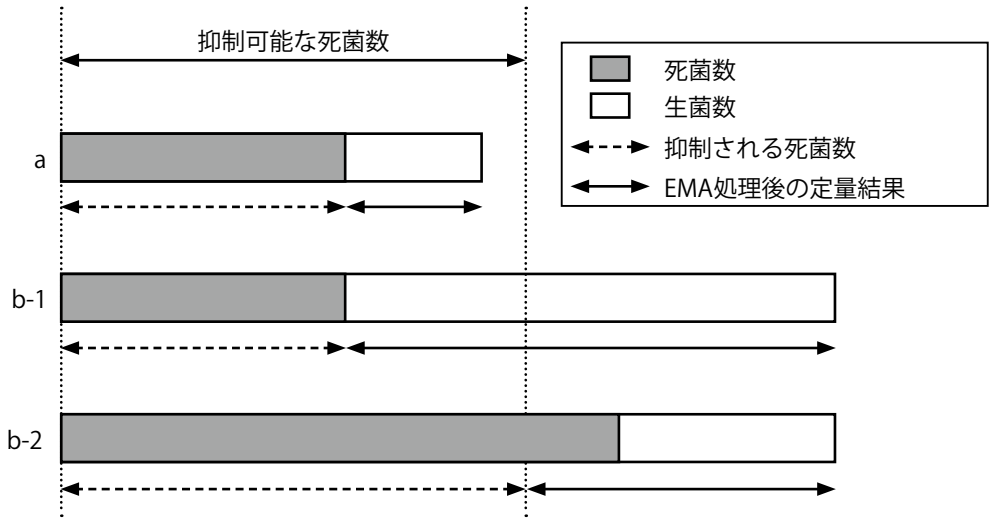
＊1：パターン 1
EMA 処理ありサンプルで不検出 → 生菌由来 DNA が検出限界以下
EMA 処理なしサンプルで不検出 → 死菌由来 DNA も検出限界以下
⇒　検体サンプル中のサルモネラ菌が検出限界以下である。

＊2：パターン 2
EMA 処理ありサンプルで不検出 → 生菌由来 DNA が検出限界以下
EMA 処理なしサンプルで検出 → 死菌由来 DNA は EMA 処理で完全に修飾済み
⇒　検体サンプル中のサルモネラ菌の生菌が検出限界以下である。

＊3：パターン 3
EMA 処理ありサンプルで検出
EMA 処理なしサンプルで検出

a. EMA 処理なしの定量結果（総菌数）が抑制可能な死菌最大数より少ない場合；EMA 処理ありの定量結果は、生菌数を表す。

b. EMA 処理なしの定量結果（総菌数）が抑制可能な死菌最大数より多い場合；EMA 処理ありの定量結果には、生菌数の他、抑制しきれなかった死菌数が含まれる可能性がある。EMA 処理に供する菌数が抑制可能な死菌最大数を下回るように菌数を調整して再試する。



a. 総菌数が抑制可能な死菌数より少ない場合。
EMA 処理後、生菌が検出される。

b-1. 総菌数が抑制可能な死菌数より多く、死菌数は抑制可能な死菌数より少なかった場合。
EMA 処理後、生菌が検出される。

b-2. 総菌数が抑制可能な死菌数より多く、死菌数は抑制可能な死菌数より多かった場合。
EMA 処理後、生菌と EMA 処理で抑制しきれなかった死菌が検出される。

図 5. パターン 3 の結果の解釈について

VII. 操作方法

実験にあたっては、手袋、マスク、防御眼鏡を使用し、安全キャビネットあるいはクリーンベンチ内で操作してください。

A. サンプル（菌液）の調製

PCR による検出は、非常に高感度です。実験環境や使用器具の汚染には極力注意を払い、コンタミネーション防止を心がけてください。

例）・可能な限り、使い捨て器具を使用する。
・使い捨てにできないものは、洗浄後、乾熱滅菌処理を施す。
・マイクロピペットは用途別に準備する（本キットを用いた検体 EMA 処理及び DNA 抽出用と PCR 試薬調製用を分ける）。

【サンプル調製】

使用する検体に適した方法でサンプル調製を行い、最終的に 100 μl 程度の菌懸濁液を用意してください。このサンプル液のうち 40 μl を「B. サンプルの前処理（EMA 処理）」に使用します。残りは氷上もしくは 4℃で保存し、EMA 処理なしサンプルを用意するために 40 μl を「B. サンプルの前処理」-6. の加熱殺菌の操作を行った後、「C. NucleoSpin Tissue XS を用いた DNA 抽出」に使用します。
なお、菌液に不純物が多く含まれると、EMA 処理で光照射が不十分になることがありますので、サンプル調製の際にできる限り不純物を除去してください。液卵からサルモネラ菌を高感度に検出するには、以下の調製法をお勧めします。

液卵からのサンプル調製

1. 液卵 5 g に 45 ml（9 倍容）の生理的食塩水を加え、撹拌する（10% 液卵）。
2. 10% 液卵 1 ml に、10 ml（10 倍容）の生理的食塩水を加え、よく撹拌した後、3,000 × *g* で 4℃、5 分間遠心分離し、上清を除く（デカントでよい）。
3. 沈殿を 1 ml の生理的食塩水で懸濁した後、Protease Solution-1　3 μl、Protease Solution-2　10 μl を加え、37℃で 1.5 時間、振とうする。
4. 3 の反応後、3,000 × *g* で 4℃、5 分間遠心分離し、上清を除く。
5. 沈殿に生理的食塩水 100 μl を加え、懸濁する。
6. 懸濁液 100 μl のうち、40 μl を「B. サンプルの前処理（EMA 処理）」に使用する。残りは氷上もしくは 4℃で保存し、［ 懸濁液 40 μl ＋ 滅菌水 15 (～ 25) μl ］を比較のための「前処理なしサンプル」として、「B. サンプルの前処理（EMA 処理）」-6. の加熱殺菌の操作を行った後、「C. NucleoSpin Tissue XS を用いた DNA 抽出」に使用する。

B. サンプルの前処理（EMA 処理）

下記に示す標準的な EMA 処理条件、あるいは VI. の条件検討を行って決定した EMA 処理条件により、サンプルの EMA 処理を行います。

光照射装置 [LED Crosslinker 12（製品コード EM200）、LED Crosslinker] を使用する場合

1. 1.5 ml チューブに A. で調製したサンプル 40 μl を準備する。
2. Solution A-sal 10 μl を添加し、混合＊1 後、軽くスピンダウンする。
3. Solution B-sal 5 μl を添加し、混合＊1 後、軽くスピンダウンする。
4. 遮光して室温で 5 分間静置する。
5. 光照射装置にセットし、15 分間光照射する。＊2
6. サンプルをスピンダウンし、95℃、5 分間ヒートブロックで加熱する。[加熱殺菌]
   A. で氷上（もしくは 4℃）保存していた懸濁液 40 μl（＋ 15 μl 滅菌水）も、6. の加熱殺菌と同様の処理を行う。

＊ 1： 短時間の緩やかなボルテックスもしくは数回のタッピングで混合してください。

＊ 2： EMA 処理を複数回行う場合は、3. ～ 5. の工程を繰り返して行ってください。その場合、各回の処理で 5 分間光照射を行い、最後の回のみ 15 分間光照射を行ってください。

＜ご参考＞

ハロゲンランプ [岩崎電気株式会社、写真証明用アイランプスポット（集光形）、PRS500W] を使用する場合は、氷上にチューブを横置きし、照射距離 20 cm で上部から照射してください。

ただし、5. の光照射は 5 分で行ってください。

C. NucleoSpin Tissue XS を用いた DNA 抽出

1. B-6. で加熱殺菌を終えたサンプル全量（55 ～ 65 µl）に、それぞれ Buffer T1 を 160 µl 加える。軽く混合して、スピンダウンする。
2. さらに Proteinase K*1 を 16 µl 加える。ボルテックスにて混合（5 秒× 2）して、スピンダウンする。
3. 56℃、10 分間インキュベートする。
4. スピンダウンしたサンプルに Buffer B3 を 160 µl 加える。ボルテックスにて混合（5 秒× 2）して、スピンダウンする。
5. 70℃、5 分間インキュベートし、ボルテックスする。
6. 各サンプルが室温に戻ったことを確認して、スピンダウンしたサンプルにエタノール（96 ～ 100%）を 160 µl 加え、ボルテックスにて混合（5 秒× 2）して、軽くスピンダウンする。
7. NucleoSpin Tissue XS Column を Collection Tube（2 ml）にセットする。
8. 6. の溶液をカラムに添加し、11,000 × *g*、1 分間遠心する。
9. カラムを新しい Collection Tube (2 ml) にセットする。
10. カラムに Buffer B5*2 を 50 µl 添加し、11,000 × *g*、1 分間遠心する。
    ろ液を捨てた後、同じ Collection Tube にカラムをセットする。
11. カラムに Buffer B5*2 を 50 µl 添加し、11,000 × *g*、2 分間遠心する。
    カラム上に液が残っていないことを確認する。
12. カラムを 1.5 ml マイクロチューブにセットする。
13. カラムに Buffer BE を 20 µl 添加し、11,000 × *g*、1 分間遠心し、DNA 溶液を回収する。
14. 得られた DNA 溶液の液量がおおよそ 20 µl であることを確認する。

＊ 1：Proteinase K：製品コード 740901.50（50 回用）の場合：Proteinase K（凍結乾燥品）20 mg (1 vial) に、Proteinase Buffer 1 ml を加え溶解する。溶解後の Proteinase K 溶液は－ 20℃で保存する。

＊ 2：Buffer B5：Wash Buffer B5 (concentrate) 2 ml あたり、8 ml のエタノールを加える。

D. リアルタイム PCR によるターゲット遺伝子の検出

C.-13. で調製した EMA 処理あり及び EMA 処理なしの DNA 溶液を用いて CycleavePCR *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0 によるリアルタイム PCR を行う。

※ CycleavePCR *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0 の説明書の「VIII. 操作」の「VIII-2. 反応液の調製と反応開始」から、操作を行ってください。

E. EMA 処理効率の確認

EMA 処理ありサンプルについては、Control Test Kit (Viable Bacteria Selection) を用いて、本キットの試薬中に含まれる反応確認用プラスミド DNA が、EMA 処理操作後、qPCR で検出されないことを確認することにより、本キットによる EMA 処理操作が正しく行われたことを確認することができる。

※ Control Test Kit (Viable Bacteria Selection) の説明書に従って操作してください。

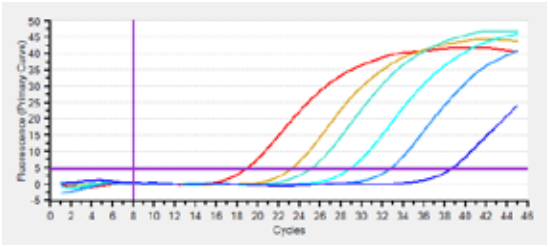
VIII. 実施例

培養したサルモネラ菌を生理食塩水に懸濁して生菌サンプルとした。また、その懸濁液の一部を 95℃、5 分間熱処理したものを、死菌サンプルとした。
本キットの手順に従って EMA 処理を行い、続いて NucleoSpin Tissue XS を用いて DNA を抽出し、得られた DNA を鋳型として CycleavePCR *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0 によるリアルタイム PCR を行った。

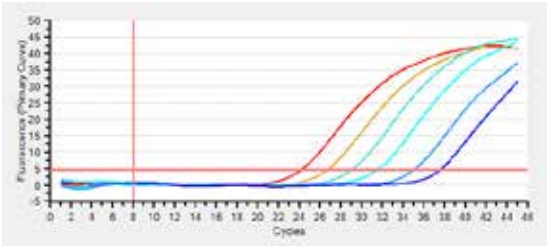
1. 生菌への影響

方法：生菌サンプルを段階希釈して、3 × 10^7 ～ 3 × 10^2 個の生菌サンプルで EMA 処理あり／なしサンプルの増幅曲線を比較することにより、生菌への影響を確認した。

＜ EMA 処理なし＞



＜ EMA 処理あり＞

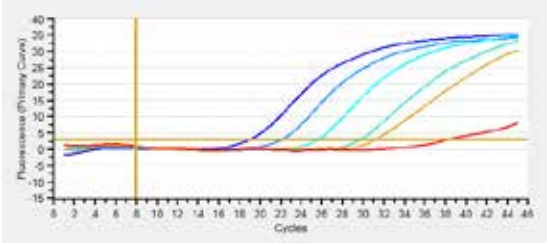


結果：菌数が多い場合には 1 オーダー程度の減少が認められましたが、菌数が少ない場合にはほぼ同等の結果が得られており、検出感度には影響がないことが分かります。

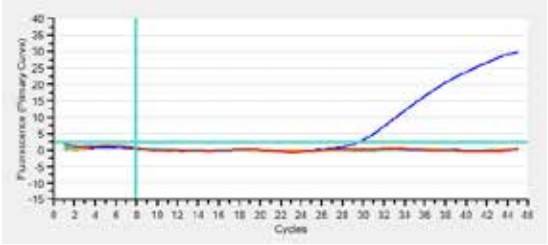
2. 死菌抑制効果

方法：死菌サンプルを段階希釈して、4 × 10^7 ～ 4 × 10^2 個の死菌サンプルで EMA 処理あり／なしサンプルの増幅曲線を比較することにより、死菌抑制効果を確認した。

＜ EMA 処理なし＞



＜ EMA 処理あり＞

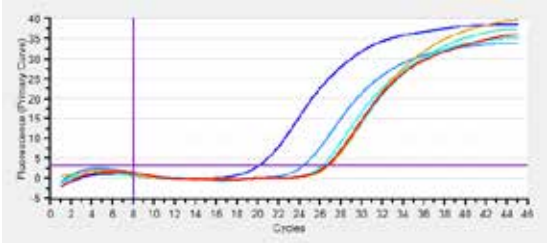


結果：少なくとも 4 × 10^6 個までの死菌を完全に抑制できることが分かります。

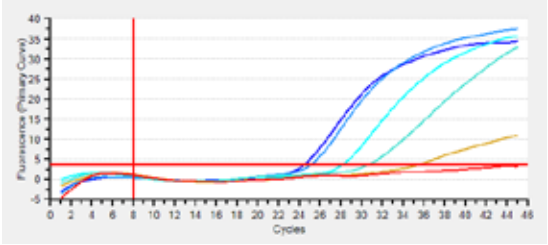
3. モデル実験

方法：実際に近い状況で確認するため、10^7 ～ 10^2 個の生菌に一定数（10^5 個）の死菌を混合したものを用意し、EMA 処理あり／なしの増幅曲線を比較した。

＜ EMA 処理なし＞



＜ EMA 処理あり＞



結果：生菌 10^7 個では、やや EMA 処理による影響が認められ検出数が減少しましたが、それ以下の菌数では、生菌が初発数依存的に検出できました。

IX. 参考文献

1) Nogva HK, Dromtorp SM, Nissen H, Rudi K. Ethidium monoazide for DNA-based differentiation of viable and dead bacteria by 5'-nuclease PCR. *Biotechniques*. 2003 Apr; **34**(4):804-8, 810, 812-3.

X. 関連製品

LED Crosslinker12（製品コード EM200）
Control Test Kit (Viable Bacteria Selection)（製品コード CY290）
Cycleave®PCR *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0（製品コード CY205）
NucleoSpin Tissue XS（製品コード 740901.10/.50/.250）
NucleoSpin Soil（製品コード 740780.10/.50/.250）
Thermal Cycler Dice® Real Time System *II*（製品コード TP900/TP960）
Thermal Cycler Dice® Real Time System *Lite*（製品コード TP700/TP760）

Viable enterohemorrhagic *E. coli* Selection Kit for PCR（製品コード 7712）
Viable *Campylobacter* Selection Kit for PCR（製品コード 7713）
Viable *Legionella* Selection Kit for PCR Ver.2.0（製品コード 7714）
Viable Bacteria Selection Kit for PCR (Gram Negative)（製品コード 7700）
Viable Bacteria Selection Kit for PCR (Gram Positive)（製品コード 7705）

XI. 注意

- 本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- Cycleave、Thermal Cycler Dice はタカラバイオ株式会社の登録商標です。その他、本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先
TaKaRa テクニカルサポートライン
Tel 077-543-6116　Fax 077-543-1977
ホームページアドレス http://www.takara-bio.co.jp/

タカラバイオ株式会社

v201408Da